



УДК: 577.115:616.34-008.87-092.9-085

ИЗМЕНЕНИЕ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛИПИДНОГО СОСТАВА КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН В УСЛОВИЯХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ И КОРРЕКЦИИ ЭМОКСИПИНОМ

CHANGES IN LIPID COMPOSITION OF CELL MEMBRANES IN TERMS OF ANTIBIOTIC THERAPY AND EMOXIPIN CORRECTION

В.А. Королев, О.А. Медведева, О.В. Бобынцева, А.В. Агейченко
V.A. Korolev, O.A. Medvedeva, O.V. Bobyntseva, A.V. Ageychenko

*Курский государственный медицинский университет
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3*

*Kursk State Medical University
305041, Kursk, Karl Marx street, 3*

e-mail: medecol1@yandex.ru, olgafrida@rambler.ru, alina7227@mail.ru

Ключевые слова: дисбиоз, мембрана эритроцита, фосфолипиды, нейтральные липиды, «эмоксипин».
Key words: dysbiosis, erythrocyte membrane, phospholipids, neutral lipids, "emoxipine".

Резюме. В генезе многих заболеваний важное значение придается мембрано-патологическим процессам. Воздействие антибактериальных препаратов широкого спектра действия приводит к выраженным нарушениям липидного состава сыворотки крови и клеточных мембран форменных элементов, которые заключаются в изменении соотношения липидных фракций. Целью исследования было изучение эффективности применения антиоксиданта «эмоксипин» для нормализации показателей липидного обмена у мышей в условиях экспериментального дисбиоза. При проведении антиоксидантной терапии с целью коррекции нарушений липидного обмена, вызванных применением антибиотиков, происходило восстановление показателей количества фосфолипидов и нейтральных липидов мембран эритроцитов, что может быть обусловлено выраженным антиоксидантным, антигипоксическим и мембранопротекторным действием препарата антиоксидантного ряда.

Summary. The impact of antimicrobial drugs leads to severe disturbances in lipid composition of erythrocyte membranes, which consist in changing of lipid fractions.

The prophylactic effectiveness of antioxidant "emoxipine" for normalization of lipid metabolism of mice experimental dysbiosis was studied. After antioxidant therapy in order to correct disorders of lipid metabolism caused by antibiotics, there is a restoration of indicators amount of phospholipids (lysophosphatidylcholine, sphingomyelin, phosphatidylinositol/serine, phosphatidylcholine, cardiolipin, phosphatidylethanolamine) and neutral lipids (cholesterol, cholesterol esters, monoglycerides, triglycerides) of erythrocyte membranes.

Modification of erythrocyte membrane can be a significant factor in violation of processes associated with phenomena of membrane degradation, barrier function, permeability, active transport of substances, transmembrane gradients. These changes may be due to a strong antioxidant, anti-hypoxic and membrane-protective action of antioxidant drug.

Введение

В настоящее время в генезе многих заболеваний важное значение придается мембрано-патологическим процессам. При воздействии ксенобиотиков (в том числе антибактериальных препаратов широкого спектра действия) имеются выраженные нарушения липидного состава сыворотки крови и клеточных мембран форменных элементов, которые заключаются в изменении соотношения липидных фракций, так как синтез и метаболизм липидов в клеточных мембранах очень чувствителен к воздействию токсических факторов, влияющих на организм [Луценко, 2006, Караман и др., 2010].

Мембрана эритроцита играет ключевую роль в детерминации гомеостаза и функциональной способности клетки. От физико-химического состояния эритроцитарной мембраны зависят процесс активного транспорта ионов, особенности функционирования мембраноассоциированных ферментов, характер взаимодействия клетки со средой, тогда как организация мембраны красных клеток крови напрямую зависит от представительности в ней белков и липидов [Конопля и др., 2011].

Фосфолипиды (ФЛ) обеспечивают целостность морфологической структуры эритроцита и прочно удерживаются эритроцитарной мембраной. В то же время даже



незначительные структурные перераспределения, приводящие к утрате асимметрии мембранных ФЛ клетками, в значительной степени могут сказаться на нарушении функций биомембраны, ее проницаемости, вязкоэластических свойств, что влечет за собой снижение стабильности мембран клеток крови и тканей, это в свою очередь, может способствовать развитию гипоксии и нарушению окислительно-восстановительных процессов в организме [Вязова, 2006, Ищутина и др., 2009].

В связи с этим целью нашего исследования явилось изучение показателей липидного обмена в условиях экспериментального дисбактериоза и коррекции антиоксидантом «Эмоксипин».

Материалы и методы

Исследование проведено на 60 мышах линии BALB/c массой 18-20 грамм, которых содержали на стандартном пищевом рационе в условиях вивария. Все животные были разделены на три группы по 20 особей в каждой. Первая группа – контрольная (интактные мыши). Вторую группу составили животные, у которых моделировали лекарственный дисбиоз путём ежедневного в течение 5 дней внутрибрюшинного введения раствора гентамицина в концентрации 80 мкг/мл в пересчёте на массу животного (0.02 мл) [Кашкин, Караев, 1984.]. Третью группу составили мыши, которым с лечебной целью внутримышечно вводили антиоксидант «эмоксипин» в дозе 167.18 мг/кг в пересчёте на массу животного (0.334 мл) в течение 10 суток после формирования экспериментального дисбиоза. Исследования проводили с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986).

Липидный состав фракций определяли традиционными методами [Ohvo-Rekila et. al., 2002]. Хроматографирование проводили по методу Крылова В.И. [Ольшанова, 1970] в насыщенных парах растворителей камерами на пластинках «Silyfol» (Россия). Для идентификации липидных фракций применяли стандартные образцы нейтральных липидов (холестерин (ХС), моноглицериды (МГ), диглицериды (ДГ), свободные жирные кислоты (СЖК), триглицериды (ТГ), эфиры холестерина (ЭХС)) и фосфолипидов (лизофосфотидилхолин (ЛФХ), фосфатидилинозитол/серин (ФИ/ФС), фосфатидилхолин (ФХ), кардиолипин (КЛ), фосфатидилэтаноламин (ФЭ)) производства фирмы «Sigma» (США), путем определения относительной подвижности фракций. Уровень содержания липидов определяли денситометрическим методом на ПВМ IBM PA/AT с использованием программы «OneDscan» в отраженном свете [Ольшанова, 1970, Кец, 1990., Сафонова и др. 2002]. Статистическую значимость различий средних величин вычисляли по t-критерию Стьюдента после проверки нормальности распределения изучаемых параметров с помощью программы Statistica 6.0 [Реброва, 2006.].

Результаты и их обсуждение. После формирования экспериментального дисбактериоза, обусловленного введением гентамицина, были выявлены следующие изменения липидного состава клеточных мембран эритроцитов крови мышей. Отмечалось достоверное увеличение количественного содержания фракций фосфолипидов (табл. 1): ЛФХ в 2 раза и СМ в 1.6 раза, также наблюдалось достоверное снижение фракций КЛ в 1.8 раза, ФИ/ФС в 1.5 раза, ФЭ в 1.4 раза и ФХ в 1.3 раза.

Таблица 1

Table 1

Количественные характеристики фосфолипидов мембран эритроцитов крови мышей. Quantitative characteristics of mice erythrocyte membranes phospholipids

| Группа животных | Контроль (интактные мыши) | Дисбиоз | Коррекция дисбиоза (эмоксипин) |
|------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| Фосфолипиды (M±m) | | | |
| Лизофосфатидилхолин | 2.92±0.73 | 5.97±0.78** | 2.87±0.32 ^{xxx} |
| Сфингомиелин | 7.23±0.27 | 11.52±1.09** | 6.80±0.79 ^{xxx} |
| Фосфатидилинозит/серин | 16.93±1.19 | 11.35±0.95 ^{***} | 15.89±1.17 ^{xx} |
| Фосфатидилхолин | 14.75±1.01 | 11.57±1.10* | 15.38±1.31 ^x |
| Кардиолипин | 2.51±0.23 | 1.41±0.17 ^{***} | 2.83±0.29 ^{xxx} |
| Фосфатидилэтаноламин | 15.82±0.96 | 11.28±1.17** | 16.46±1.10 ^{xx} |



Примечание:

- * – $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой,
- ** – $p < 0.01$ по сравнению с контрольной группой,
- *** – $p < 0.001$ по сравнению с контрольной группой;
- ^x – $p < 0.05$ по сравнению с группой «дисбиоз»,
- ^{xx} – $p < 0.01$ по сравнению с группой «дисбиоз»,
- ^{xxx} – $p < 0.001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

При коррекции экспериментального дисбиоза антиоксидантом «эмоксипин» происходит достоверная нормализация исследуемых показателей. Количественное содержание фракций ЛФХ и СМ снижается в 2.1 и 1.7 раза соответственно в сравнении с группой экспериментального дисбактериоза. Отмечается достоверное повышение содержания КЛ в 2 раза, ФЭ в 1.5 раза, ФИ/ФС в 1.4 раза, ФХ в 1.3 раза. Важно отметить, что все числовые показатели исследуемых фракций, за исключением ФИ/ФС, достигли значений в контрольной группе В исследовании также было проведено изучение мембранных нейтральных липидов (табл. 2).

Таблица 2
Table 2

Количественные характеристики мембранных нейтральных липидов эритроцитов крови мышей
Quantitative characteristics of mice erythrocyte membranes neutral lipids

| Группа животных | Контроль (интактные мыши) | Дисбиоз | Коррекция дисбиоза (эмоксипин) |
|--------------------------|---------------------------|---------------|--------------------------------|
| Нейтральные липиды (M±m) | | | |
| Холестерин | 47.27±1.12 | 55.40±1.17*** | 48.89±1.59 ^{xx} |
| Моноглицериды | 2.89±0.24 | 3.51±0.40 | 2.55±0.19 ^x |
| Диглицериды | 2.09±0.24 | 2.65±0.24 | 2.51±0.16 |
| Свободные жирные кислоты | 1.91±0.18 | 1.47±0.16 | 1.78±0.13 |
| Триглицериды | 6.79±0.69 | 9.52±0.84* | 7.19±0.67 ^x |
| Эфиры холестерина | 27.75±1.79 | 38.52±1.84*** | 31.29±1.35 ^{xx} |

Примечание:

- * – $p < 0.05$ по сравнению с контрольной группой,
- ** – $p < 0.01$ по сравнению с контрольной группой,
- *** – $p < 0.001$ по сравнению с контрольной группой;
- ^x – $p < 0.05$ по сравнению с группой «дисбиоз»,
- ^{xx} – $p < 0.01$ по сравнению с группой «дисбиоз»,
- ^{xxx} – $p < 0.001$ по сравнению с группой «дисбиоз».

Из представленных данных видно, что при гентамициновом дисбиозе достоверно увеличилось содержание фракции ЭХС и ТГ в 1.4 раза, а ХС в 1.2 раза. Изменения количественного содержания фракций МГ, ДГ и СЖК были ниже уровня достоверности.

После введения антиоксиданта «эмоксипин» с целью коррекции дисбактериоза кишечника было выявлено снижение ХС в 1.1 раза, ЭХС в 1.2 раза, ТГ в 1.3 раза и МГ в 1.4 раза в сравнении с группой «дисбиоз».

Заключение

Таким образом, введение гентамицина приводит к изменениям в количественном составе фосфо- и нейтральных липидов мембран эритроцитов. Возможно, одной из вероятных причин изменения количества ФЭ является возможность его превращения в ФХ путем метилирования, не исключен и вариант усиления гидролиза фосфолипазой А2 (ФЭ содержит более 50% всей арахидоновой кислоты ФЛ мембран эритроцитов) [Трошкина и др., 2007]. Обеднение эритроцитов ФХ, формирующим внешнюю оболочку липидного матрикса клетки свидетельствует о дезинтеграции мембранных структур, завершающейся их деструкцией [Акалаев, Абидов, 1993].

Как известно, СМ не подвергается действию фосфолипаз и, возможно, замещает ФХ, что в какой-то мере направлено на сохранение структурной целостности эритроцитарной мембраны [Вязова, 2006.].



Нарушение нормального количественного соотношения отдельных фракций ФЛ приводит к дестабилизации липидных структур клеточных мембран. Одним из механизмов подобных изменений может быть активация эндогенной фосфолипазы А₂. Доказательством этого процесса является накопление специфического маркера мембранодеструкции ЛФХ [Парсон, 1978.]. Увеличение ЛФХ, обладающего мембранотоксическим действием, способствует разрыхлению гидрофобной области липидного слоя мембран эритроцитов [Nilsson et al., 2010].

Выявленная модификация фосфолипидного бислоя эритроцитарной мембраны может явиться существенным фактором нарушения процессов, связанных с явлениями деструкции мембраны, ее барьерных функций, проницаемости, процессов активного переноса веществ, трансмембранных градиентов.

При проведении антиоксидантной терапии эмоксипином с целью коррекции нарушений липидного обмена, вызванных применением антибиотиков, происходило восстановление ряда показателей липидного состава мембран эритроцитов, что, по нашему мнению, может быть обусловлено выраженным антиоксидантным, антигипоксическим и мембранопротекторным действием препарата антиоксидантного ряда.

Литература

- Акалаев Р.Н., Абидов А.А. 1993. Фосфолипидный состав эритроцитов у больных хронической почечной недостаточностью *Вопр. мед. химии*, 5: 43-45.
- Парсон Д.С. 1978. Биологические мембраны. Двенадцать очерков о структуре, свойствах и функции мембран. М., Мир, 230.
- Вязова А.В. 2006. Фосфолипиды мембран эритроцитов у больных хроническим бронхитом, сочетанным с уролитиазом. *Патол. физиол. и экс. терапия*, 1: 12-15.
- Ишугина Н.А., Дорофиев Н.Н., Болелова С.М. 2009. Фракционный состав фосфолипидов мембран эритроцитов у беременных с бронхиальной астмой. *Бюллетень физиологии и патологии дыхания*, 31: 60-62.
- Караман Ю.К., Новгородцева Т.П., Жукова Н.В. 2010. Особенности состава фосфолипидов эритроцитов и состояние редокс-системы глутатиона у крыс при адаптации к гиперхолестериновой нагрузке. *Бюл. exper. биол. и медицины*, 150 (9): 258-261.
- Кашкин К.П., Караев З.О. 1984. Иммунная реактивность организма и антибиотическая терапия. Л., Медицина, 200.
- Кец Э. 1990. Количественный анализ хроматографическими методами К60. (пер. с англ.). М., Мир, 320.
- Конопля А.И., Гаврилюк В.П., Долгарева С.А., Блинков Ю.А., Шатохин М.Н. 2011. Белки и липиды мембраны эритроцитов при хроническом простатите; возможности фармакологической коррекции нарушений. *Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье"*, 4: 166-169.
- Луценко М.Т. 2006. Фосфолипиды при нарушении дыхательной функции организма. Благовещенск, Амурский гос. ун-т, 164.
- Ольшанова К.М. 1970. Практикум по хроматографическому анализу. М., Высш. Школа, 312.
- Реброва О.Ю. 2006. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica. М., МедиаСфера, 312.
- Сафонова Е.Ф., Назарова А.А., Селеменев В.Ф. 2002. Выбор оптимальных параметров разделения фосфолипидов в тонком слое сорбента. *Хим.- фарм. журн.*, 4: 41-43.
- Тропкина Н.А., Циркин В.И., Дворянский С.А. 2007. Эритроцит: строение и функции его мембраны. *Вятский медицинский вестник*, 2-3: 32-40.
- Ohvo-Rekila H., Ramstedt B., Leppimäki P., Slotte J.P. 2002. Cholesterol interactions with phospholipids in membranes. *Prog. Lipid Res*, 41 (1): 457-468.
- Nilsson J, Dahlgren B., Ares M. [et al]. 2010. Lipoprotein – like phospholipid particles inhibit the smooth muscle cell cytotoxicity of lysophosphatidylcholine and platelet-activating factor. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vasc. Biol*, 18 (1): 13-19.

Literature

- Akalaev R.N., Abidov A.A. 1993. Fosfolipidnyy sostav eritrotsitov u bol'nykh khronicheskoy pochechnoy nedostatochnost'yu *Vopr. med. khimii*, 5: 43-45 (in Russian).
- Parson D.S. 1978. Biologicheskie membrany. Dvenadtsat' ocherkov o strukture, svoystvakh i funktsii membran. M., Mir, 230 (in Russian).
- Vyazova A.V. 2006. Fosfolipidy membran eritrotsitov u bol'nykh khronicheskim bronkhitom, sochetannym s urolitiazom. *Patol. fiziol. i eks. terapiya*, 1: 12-15 (in Russian).
- Ishutina N.A., Dorofienko N.N., Bolelova S.M. 2009. Fraktsionnyy sostav fosfolipidov membran eritrotsitov u beremennykh s bronkhial'noy astmoy. *Byulleten' fiziologii i patologii dykhaniya*, 31: 60-62 (in Russian).



Karaman Yu.K., Novgorodtseva T.P., Zhukova N.V. 2010. Osobennosti sostava fosfolipidov eritrotsitov i sostoyanie redoks-sistemy glutationa u krysa pri adaptatsii k giperkholesterinovoy nagruzke. *Byul. eksper. biol. i meditsiny*, 150 (9): 258-261 (in Russian).

Kashkin K.P., Karaev Z.O. 1984. *Immunnaya reaktivnost' organizma i antibioticheskaya terapiya*. L., Meditsina, 200 (in Russian).

Kets E. 1990. *Kolichestvennyy analiz khromatograficheskimi metodami K60*. (per. s angl.). M., Mir, 320 (in Russian).

Konoplya A.I., Gavrilyuk V.P., Dolgareva S.A., Blinkov Yu.A., Shatokhin M.N. 2011. Belki i lipidy membrany eritrotsitov pri khronicheskom prostatite; vozmozhnosti farmakologicheskoy korrektsii narusheniy. *Kurskiy nauchno-prakticheskiy vestnik "Chelovek i ego zdorov'e"*, 4: 166-169 (in Russian).

Lutsenko M.T. 2006. *Fosfolipidy pri narushenii dykhatel'noy funktsii organizma*. Blagoveshchensk, Amurskiy gos. un-t, 164 (in Russian).

Ol'shanova K.M. 1970. *Praktikum po khromatograficheskomu analizu*. M., Vyssh. Shkola, 312.

Rebrova O.Yu. 2006. *Statisticheskiy analiz meditsinskikh dannykh. Primenenie paketa programm Statistica*. M., MediaSfera, 312 (in Russian).

Safonova E.F., Nazarova A.A., Selemenov V.F. 2002. Vybora optimal'nykh parametrov razdeleniya fosfolipidov v tonkom sloe sorbenta. *Khim.- farm. zhurn.*, 4: 41-43 (in Russian).

Troshkina N.A., Tsirkin V.I., Dvoryanskiy S.A. 2007. Eritrotsit: stroenie i funktsii ego membrany. *Vyatskiy meditsinskiy vestnik*, 2-3: 32-40 (in Russian).

Ohvo-Rekila H., Ramstedt B., Leppimaki P., Slot-te J.P. 2002. Cholesterol interactions with phospholipids in membranes. *Prog. Lipid Res*, 41 (1): 457-468.

Nilsson J, Dahlgren B., Ares M. [et al]. 2010. Lipoprotein – like phospholipid particles inhibit the smooth muscle cell cytotoxicity of lisophosphatidilcholine and platelet-activating factor. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vasc. Biol*, 18 (1): 13-19.